

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL - UFRGS
UNIVERSIDADE ESTADUAL DO RIO GRANDE DO SUL – UERGS**

**CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS ÊNFASES BIOLOGIA MARINHA E
COSTEIRA E GESTÃO AMBIENTAL MARINHA E COSTEIRA**

EMANUELE FONTANA ZANELATO

**PREDAÇÃO EM POPULAÇÕES DE ROEDORES SUBTERRÂNEOS DO GÊNERO
CTENOMYS PELA CORUJA BURQUEIRA (*ATHENE CUNICULARIA*) NO
LITORAL NORTE DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL.**

IMBÉ

2011

EMANUELE FONTANA ZANELATO

**PREDAÇÃO EM POPULAÇÕES DE ROEDORES SUBTERRÂNEOS DO GÊNERO
CTENOMYS PELA CORUJA BURQUEIRA (*ATHENE CUNICULARIA*) NO
LITORAL NORTE DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL.**

**Monografia apresentada como requisito parcial
para obtenção do grau de Bacharel em Ciências
Biológicas com ênfase em Biologia Marinha e
Costeira pela Universidade Federal do Rio
Grande do Sul em parceria com a Universidade
Estadual do Rio Grande do Sul**

ORIENTADOR: THALES RENATO OCHOTORENA DE FREITAS

IMBÉ

2011

Z28p Zanellato, Emanuele Fontana

Predação em populações de roedores subterrâneos do gênero *Ctenomys* pela coruja buraqueira (*Athene cunicularia*) no litoral norte do Rio Grande do Sul, Brasil./ Emanuele Fontana Zanellato – Imbé, 2011.

44 f.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul em convênio com a Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, Curso de Ciências Biológicas com ênfase em biologia marinha e costeira, Pólo em Imbé/Cidreira, 2011.

Orientador: Prof. Dr. Thales Renato Ochotorena de Freitas.

1. Tuco-tuco. 2. Coruja Buraqueira. 3. Predação. 4. Litoral Norte do Rio Grande do Sul. I. Freitas, Thales Renato Ochotorena. II. Universidade Federal do Rio Grande do Sul e Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, Curso de Ciências Biológicas com ênfase em biologia Marinha e Costeira, Pólo em Imbé/Cidreira. III. Título.

EMANUELE FONTANA ZANELLATO

PREDAÇÃO EM POPULAÇÕES DE ROEDORES SUBTERRÂNEOS DO GÊNERO
CTENOMYS PELA CORUJA BURAQUEIRA (*ATHENE CUNICULARIA*) NO
LITORAL NORTE DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL.

Monografia apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas com ênfase em Biologia Marinha e Costeira pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul em parceria com a Universidade Estadual do Rio Grande do Sul

Aprovada em ____/____/____

BANCA EXAMINADORA:

Profa. Dra. Lavínia Schüler Faccini

Dr. Caiton Martins Ferreira

Coordenador da atividade
Trabalho de Conclusão II – CBM

Prof. Dr. Eduardo Guimarães Barboza

AGRADECIMENTOS

Após quatro anos de estudo estou concluindo minha graduação, não apenas pelo meu esforço, mas também devido ao apoio, compreensão e incentivo em todas as etapas dos amigos e família.

Em primeiro lugar agradeço ao Thales pela orientação, pela troca de idéias e pela paciência. Obrigado pela oportunidade, por toda ajuda, confiança, e estímulo durante a realização desse trabalho.

A professora Lavínia que é responsável pelo meu interesse na área e pela primeira orientação para o desenvolvimento deste trabalho. Obrigada pela força, pelas idéias, pelo estímulo e confiança em mim depositada.

Obrigado aos colegas e amigos Deise, Júlio Lavieja, Luise e Roberta por agüentar meus momentos de nervosismo e ansiedade durante a execução do trabalho, pelas risadas, pelas conversas, caronas e troca de idéias, vocês foram muito importantes nessas últimas etapas não só do curso, mas também da minha vida e continuarão presentes mesmo quando estivermos longe.

Ao Loreci funcionário do CECLIMAR, pelas divertidas coletas, obrigado por me orientar, apoiar, pelos momentos descontraídos e pela confiança.

Ao colega do Laboratório Fabrício Bertuol pela força, pelo apoio e paciência durante a realização do experimento, muito obrigado.

A minha família que sempre me deu apoio, carinho e é a quem devo a pessoa que sou hoje. Obrigado por sempre estarem ao meu lado.

E ao Emanuel, meu amor, meu amigo que me da força e apoio para que eu conclua mais essa etapa, de muitas que ainda iremos concluir juntos.

RESUMO

Os roedores do gênero *Ctenomys* conhecidos como Tuco-tucos habitam o litoral Norte do Rio Grande do Sul, nesta região ocorrem duas espécies em simpatria o *Ctenomys minutus* e *Ctenomys flamarioni*. A ave *Athene cunicularia* é comum no Rio Grande do Sul e alimenta-se de mamíferos, dentre estes se caracteriza a predação de tuco-tucos. O objetivo do estudo é a predação de tuco-tucos pela coruja buraqueira, relacionando possíveis fatores ambientais e biológicos que podem ter influência na caracterização da presa. No período que compreende novembro de 2010 e abril de 2011 foram realizadas coletas mensais no entorno das tocas de corujas localizadas entre Imbé até a Praia do Barco no em busca de crânios de tuco-tucos depositados devido à predação destes. Os crânios coletados foram submetidos à extração, amplificação e seqüenciamento do DNA utilizando três metodologias diferenciadas para determinação da espécie já que existem vários estudos que descrevem a presença de ossos do gênero *Ctenomys*, mas não há estudos que caracterizem qual ou quais espécies são predadas. A partir da observação em campo alguns dados ecológicos puderam ser analisados, entre eles o pico de predação nos meses de nascimento dos tuco-tucos. Há também uma relação entre o ambiente onde se localizam as tocas das corujas e a dieta destas. Também com relação à dieta foi observado grande influencia antrópica através da inserção de alimentos que são depositados no lixo das residências próximas as tocas. O posicionamento e características do hábitat também foram observados, além do comportamento destas durante as análises. Nas análises laboratoriais foi obtido sucesso em apenas uma das vinte e uma amostras na qual foi encontrado um *Ctenomys flamarioni*. Apesar da dificuldade em extrair DNA de ossos, este trabalho comprova que é possível, a partir de melhoramentos em protocolos e novas tentativas, podendo assim extrair e seqüenciar DNA de tuco-tucos predados e contribuir para entendimento das relações interespecíficas.

Palavras chave: 1. Tuco-tuco. 2. Coruja Buraqueira. 3. Predação. 4. Litoral Norte do Rio Grande do Sul.

ABSTRACT

The rodents of the genus *Ctenomys* called Tuco-tucos are located in the Northern coast of Rio Grande do Sul, in this region occur two species in sympatric, the *Ctenomys minutus* e *Ctenomys flamarioni*. The bird *Athene cunicularia* it is common in the Rio Grande do Sul and feeds by mammals, one of them are the Tuco-tucos. The objective of this paper is the predation of tuco-tucos by the burrowing owl, relating possible environmental and biological factors that can have influence in the characterization of the prey. During the period that covered November of 2010 and April of 2011 were realized monthly surveys in the vicinity of the owls' burrows located on Imbé up to the Praia do Barco looking for tuco-tucos' skulls deposited by the predation of them. The collected skulls were submitted to extraction, amplified and sequencing of DNA using three different methods for determination of species in despite that has a lot of studies that describe genus *Ctenomys*' bones but don't describe the specie. In the campo observation some ecological aspects could be analyzed, one of them is the predation's peak in the tuco-tuco's born months. Either has a relation by de the environment were the burrows of owls are and they diet. Even related to the diet was observed big human influence by the food insert that were deposited in the house's garbage around the burrows. Even was observed the position and characteristics of the habitat and their behavior. In the laboratory the success was obtained in just one sample which was found a *Ctenomys flamarioni*. Despite of the difficult to extract DNA from bones, this paper proves that it's possible, with improvements in protocols and retries, can be extracted and sequenced DNA from tuco-tucos predated and contributes to understanding of interspecific relationships.

Key words: 1. Tuco-tuco. 2. Burrowing owl. 3. Predation. 4. Northern Coast of Rio Grande do Sul.

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO.....	8
1.1 O GÊNERO <i>CTENOMYS</i>	8
1.1.1 <i>Ctenomys flamarioni</i>	11
1.1.2 <i>Ctenomys minutus</i>	14
1.2 O GÊNERO <i>ATHENE</i>	17
1.2.1 <i>Athene cunicularia</i>	18
1.3 DNA MITOCONDRIAL.....	20
2 OBJETIVOS.....	22
2.1 OBJETIVO GERAL.....	22
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	23
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	23
3.1 ÁREA DE ESTUDO.....	24
3.2 AMOSTRAGEM.....	25
3.3 EXTRAÇÃO, AMPLIFICAÇÃO E SEQÜENCIAMENTO.....	27
3.4 ANÁLISE DE DADOS.....	28
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
4.1 ASPECTOS ECOLÓGICOS.....	28
4.2 ANÁLISE GENÉTICA.....	35
5 CONCLUSÃO.....	37
REFERÊNCIAS.....	38

1. INTRODUÇÃO

As aves rapinantes da espécie de coruja, *Athene cunicularia*, utilizam-se na composição de sua dieta tanto pequenos invertebrados como vertebrados. Dentro destes vertebrados destacam-se os roedores do gênero *Ctenomys*. Estes, como outros vertebrados de maior porte presentes em sua dieta não representam grande número mas são responsáveis por grande parte de sua biomassa (ANDRADE et al., 2004).

As características e interações destes dois gêneros serão apresentadas nos tópicos que seguem.

1.1 O GÊNERO *CTENOMYS*

Como definição, animais subterrâneos são aqueles de hábito fossorial, que passam a maior parte de sua vida no interior de túneis fechados (LACEY et al., 2000). Os roedores fossoriais do gênero *Ctenomys* habitam o sul da região Neotropical, 17°S até 54°S, dos Andes até o Oceano Atlântico. O gênero *Ctenomys* apresenta um processo de especiação explosivo entre os gêneros de mamíferos atuais (LESSA E COOK, 1998) possuindo cerca de 60 espécies descritas (REIG et al. 1990).

Animais deste gênero constroem túneis ou sistemas de galerias nos quais habitam podem ser constituídos por um, na maioria das vezes, ou mais indivíduos (LACEY et al., 2000). Esses túneis são mantidos fechados pelos indivíduos ocupantes, o que proporciona não só proteção contra predadores (MCNAB, 1966), mas também para o controle da temperatura e concentração de gases no ambiente, que, embora seja estável, exige adaptações fisiológicas para suportar as baixas concentrações de O₂ e altas concentrações de CO₂ (REIG et al. 1990).

A estrutura destes sistemas consiste em uma galeria principal e várias ramificações partindo desta, terminando em aberturas ou em um fundo cego. Ao

longo das galerias são encontradas câmaras especializadas para depósito de alimento ou defecação (GALLARDO E ANRIQUE, 1991; NEVO, 1979).

Estudos detalhados de sua distribuição mostram que os tuco-tucos (nome comum atribuído aos representantes do gênero *Ctenomys*) apresentam uma tendência a viver em solos arenosos ou, no mínimo, bem arejados (CONTRERAS, 1973). Isso se deve não só às restrições impostas a atividade escavatória que realizam os indivíduos, mas também por restrições relacionadas com a manutenção do calor e o intercâmbio de gases através do solo (MCNAB, 1966).

Os tuco-tucos apresentam adaptações morfológicas relacionadas ao seu hábito subterrâneo, como o corpo robusto e cilíndrico, a cabeça grande, a cauda curta, a abertura bucal atrás dos incisivos e unhas fortes. O pescoço e os membros são curtos e musculosos. (NEVO, 1979; NOWAK, 1999).

A constatação da presença destes animais no campo pode ser feita pela observação de amontoados de areia que correspondem aos “tampões” que os indivíduos usam para fechar suas tocas (PEARSON et al., 1968).

Durante o forrageio, os tuco-tucos mantém-se sempre próximos ao túnel, nas bordas das saídas, como meio de evitar a predação. Alimentam-se especialmente de gramíneas, sendo generalistas na maioria dos casos (GALLARDO E ANRIQUE, 1991; NEVO, 1979), tendo, portanto influência direta na composição florística da região e na modificação das condições do solo, através do revolvimento e aeração deste (DEL VALLE et al., 2001). Além disso, a presença de tuco-tucos em uma região disponibiliza maior biomassa de presa para alguns predadores que possuem condições de capturá-los, sendo em alguns casos o principal item alimentar destes predadores, tais como grandes aves de rapina, cobras, graxains e furões (PIA et al., 2003).

Outras características do gênero são a marcada territorialidade e baixa dispersão (BUSCH et al., 2000), além de estar constituído principalmente por espécies solitárias, apesar de já terem sido descritas algumas espécies sociais e semi-sociais (LACEY et al., 1997; LACEY, 2000). Dada a forte territorialidade dos indivíduos, especialmente dos machos, os juvenis permanecem aproximadamente três meses em sua toca de nascimento, sendo posteriormente expulsos e obrigados a dispersar (GALLARDO & ANRIQUE, 1991; NOWAK, 1999; PEARSON, 1959; PEARSON et

al., 1968). Neste momento são especialmente vulneráveis, sendo já documentada a predação preferencial de jovens por algumas espécies de corujas (GALLARDO E ANRIQUE, 1991; PEARSON et al., 1968).

Como o ambiente subterrâneo é descontínuo, um mosaico de áreas favoráveis e recursos disponíveis interpostas por áreas desfavoráveis, prevalece entre as populações a distribuição fragmentada. A diversificação do grupo estaria facilitada pela formação de pequenos demes isolados devido a distribuição fragmentada (BUSCH et al., 2000), e a ação da deriva genética que permitiria a fixação rápida de rearranjos cromossômicos (NEVO, 1979). Assim esses rearranjos deram origem à alta variabilidade cariotípica existente: de $2n=10$ até $2n=70$, a mais ampla variação entre os mamíferos (FREITAS E LESSA, 1984; FREITAS, 1990; FREITAS, 1994 e 1997; KIBLISKY et al., 1977; REIG et al., 1992). Embora apresentem uma grande variação cromossômica interespecífica, variações intra-específicas ocorrem em várias espécies (FREITAS, 1997).

A alta velocidade de diversificação no clado tem sido sugerida através de estudos filogenéticos, pela persistência de politomias em filogenias obtidas tanto a partir de seqüências do citocromo-b mitocondrial (COOK E LESSA, 1998; LESSA E COOK, 1998) como a partir de dados provenientes do DNA nuclear (fragmentos dos genes da rodopsina e vimentina; CASTILLO et al., 2005).

Na América do Sul as populações do gênero *Ctenomys* distribuem-se desde a Terra do Fogo, na Argentina até o sul da Bolívia e Peru, e desde o nível do mar até mais de 4000 metros de altitude nos Andes Peruanos (NOVAK, 1999; PEARSON, 1959). No Brasil ocupam os estados do Mato Grosso, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Cinco espécies de *Ctenomys* apresentam distribuição dentro do estado do Rio Grande do Sul. Exclusivas ao estado temos *C. flamarioni*, *C. sp* e *C. lami*. *Ctenomys minutus* e *C. torquatus* apresentam parte de sua distribuição no estado de Santa Catarina e no Uruguai, respectivamente (FIGURA 1) (FERNÁNDEZ-STOLZ et al., 2007; FREITAS, 1995, 1997; FREITAS, 2001; FREITAS, 2006; SILVA et al., 2000a,b; GAVA & FREITAS, 2002; GAVA & FREITAS, 2003, 2004; HEUSER et al., 2002).

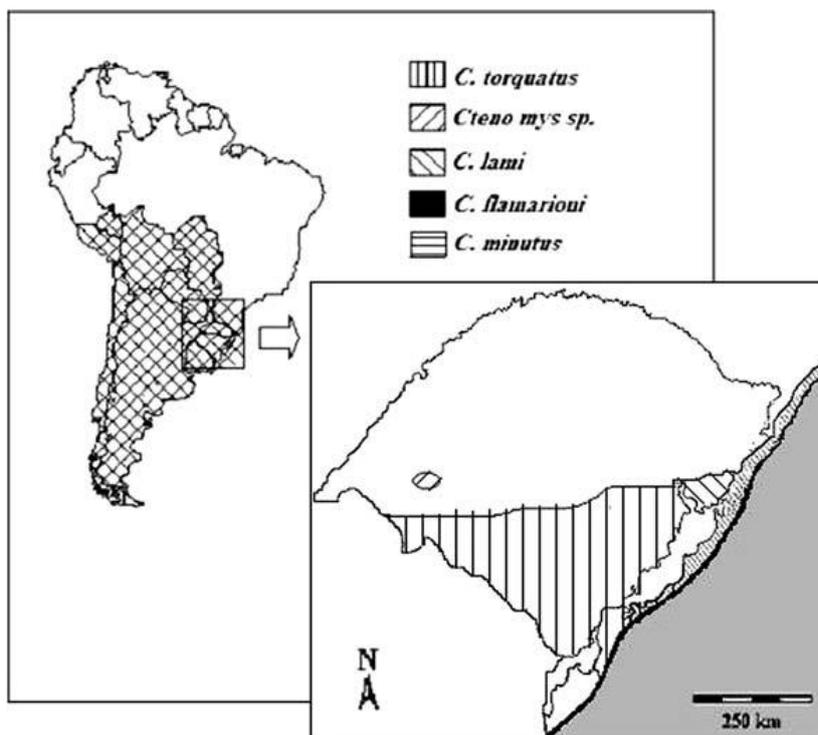


FIGURA 1: Distribuição das espécies do gênero *Ctenomys* no Rio Grande do Sul.

1.1.1 *Ctenomys flamarioni*, Travi 1981

Os roedores fossoriais conhecidos como “tucu-tuco-das-dunas” da espécie *Ctenomys flamarioni* foram recentemente descritos em 1981 e por este motivo não possuem muitos trabalhos relacionados ao seu respeito. Sabe-se que esta espécie é endêmica do Rio Grande do Sul, ocupando a primeira linha de dunas dos depósitos eólicos e marinhos mais recentes da Planície Costeira do Rio Grande do Sul (FREITAS, 1995a). Sua distribuição compreende desde Arroio Teixeira ao norte do litoral do Rio Grande do Sul (FREITAS, 1995a), até o arroio Chuí, sendo seu limite ao sul do litoral do Rio Grande do Sul (FIGURA 2) FERNÁNDEZ-STOLZ et al., 2007).

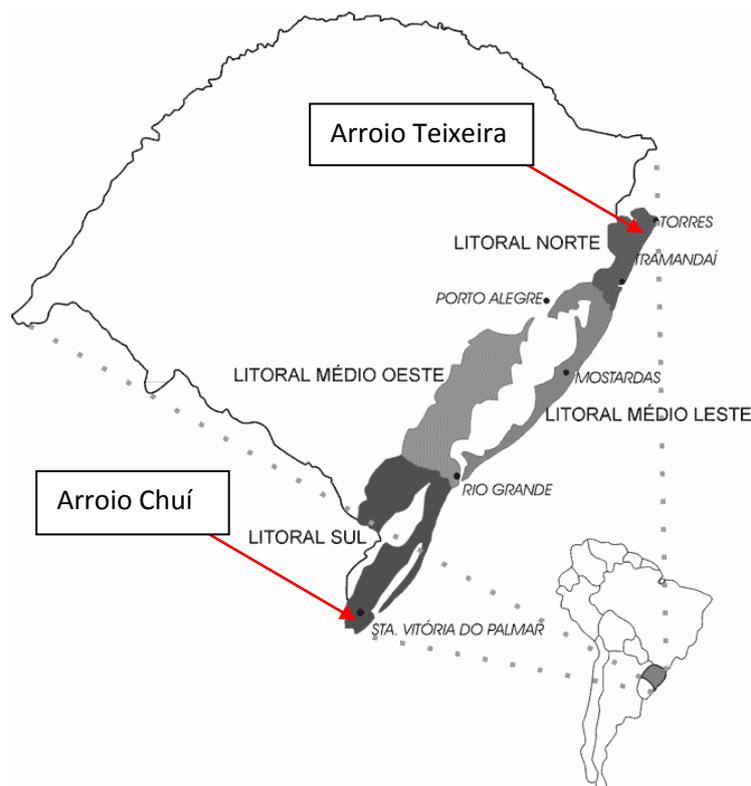


FIGURA 2: Mapa de distribuição da espécie *Ctenomys flamarioni* desde Arroio Teixeira até Arroio Chuí. (Modificado do site da FEPAM).

Devido ao alto grau de salinidade encontrado na primeira linha de dunas, a vegetação tende a ser homogênea e com baixa biomassa. Nesse ambiente arenoso que os animais cavam seus túneis onde passam maior parte do tempo realizando seus processos vitais (BRETSCHNEIDER, 1987).

O tuco-tuco-das-dunas caracteriza-se morfologicamente por apresentar coloração clara, críptica à areia das dunas que habita, e apresentar tamanho maior que a maioria das outras espécies do gênero. Essa característica pode ser explicada pelo solo frouxo e arejado, esta hipótese é subsidiada pelo mesmo padrão de tamanho encontrado em *C. australis* que ocorre na Argentina, nas dunas costeiras da Província de Buenos Aires (CONTRERAS E MCNAB, 1990).

Outra característica marcante encontrada na espécie trata-se do cariótipo único encontrado ($2n=48$) para todos os indivíduos estudados, diferente das outras espécies brasileiras as quais ocorre variabilidade cromossômica (FREITAS, 1994). Apesar do cariótipo único, encontram-se variações no número de braços autossômicos. Essa variação pode ser observada quando analisados indivíduos localizados em um gradiente norte-sul, sendo o maior número encontrado 78 e o menor 50. Determinando um gradiente norte-sul relacionado à quantidade de

heterocromatina constitutiva na distribuição geográfica da espécie. Este decréscimo da heterocromatina constitutiva é devido à perda do braço curto do par autossômico 1 nas populações ao sul da Barra de Rio Grande (FREITAS, 1994).

Assim como o padrão apresentado pela maioria das espécies de roedores subterrâneos, *Ctenomys flamarioni* possui sua classe predominante etária composta por adultos (BUSCH et al., 2000; FERNÁNDEZ, 2002; GALLARDO & ANRIQUE, 1991).

A partir dos registros de fêmeas em período de amamentação ocasionados apenas na primavera e verão, foi concluída a existência de um único período de acasalamento da espécie com base nas populações estudadas (FERNÁNDEZ, 2002).

As áreas de estudo mostram que os machos ocupam uma área maior que as fêmeas (FERNÁNDEZ, 2002), o que pode ser consequência de sua diferença de tamanho, sendo assim os machos possuem necessidades energéticas maiores que as das fêmeas, ou pela poliginia que obriga os machos a ocuparem áreas maiores para encontrar maior número de fêmeas (FERNÁNDEZ, 2002).

Assim como no padrão geral do gênero, não houveram descrições de túneis compartilhados por indivíduos de sexo oposto nem por indivíduos de mesmo sexo na fase adulta, limitando-se a divisão de túneis por fêmeas e filhotes (FERNÁNDEZ, 2002).

A espécie encontra-se descrita como vulnerável à extinção tanto na Lista Nacional de Espécies da Fauna Brasileira Ameaçadas de Extinção (IBAMA, 2007) assim como na Lista da Fauna Ameaçadas de Extinção do Rio Grande do Sul (FONTANA et al; 2003).

O declínio desta espécie assim como de outras dependentes da faixa de dunas dá-se principalmente pela contínua degradação de seu habitat. Em função da diminuição da população já são encontrados acentuadas perdas na variabilidade genética de *Ctenomys flamarioni*. Em um estudo de variabilidade genética com microsatélites, comparando três populações diferentes localizadas em regiões com diferentes níveis de ação antrópica no Litoral Norte do Rio Grande do Sul, foi evidenciada a maior perda da variabilidade na população considerada impactada,

sendo as causas mais prováveis o endocruzamento e/ou gargalos de garrafa (FERNÁNDEZ, 2002).

1.1.2 *Ctenomys minutus*, Nehring 1887

A espécie *Ctenomys minutus* ocupa dois habitats, os campos arenosos e as dunas da Planície Costeira do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. Sua área de distribuição é predominante ao Rio Grande do Sul, sendo o limite norte das populações em Laguna (SC) e o limite sul em São José do Norte (RS) (FIGURA 3). Uma peculiaridade encontrada na distribuição das populações é a ocupação da primeira linha de dunas da Costa no trecho que vai de Laguna até as margens do Rio Mampituba, e no trecho seguinte até São José do Norte, são encontrado nos campos arenosos interiores à Planície Costeira (FREITAS, 1990; FREITAS, 1995a; FREYGANG et al.,2004; MARINHO E FREITAS, 2000).

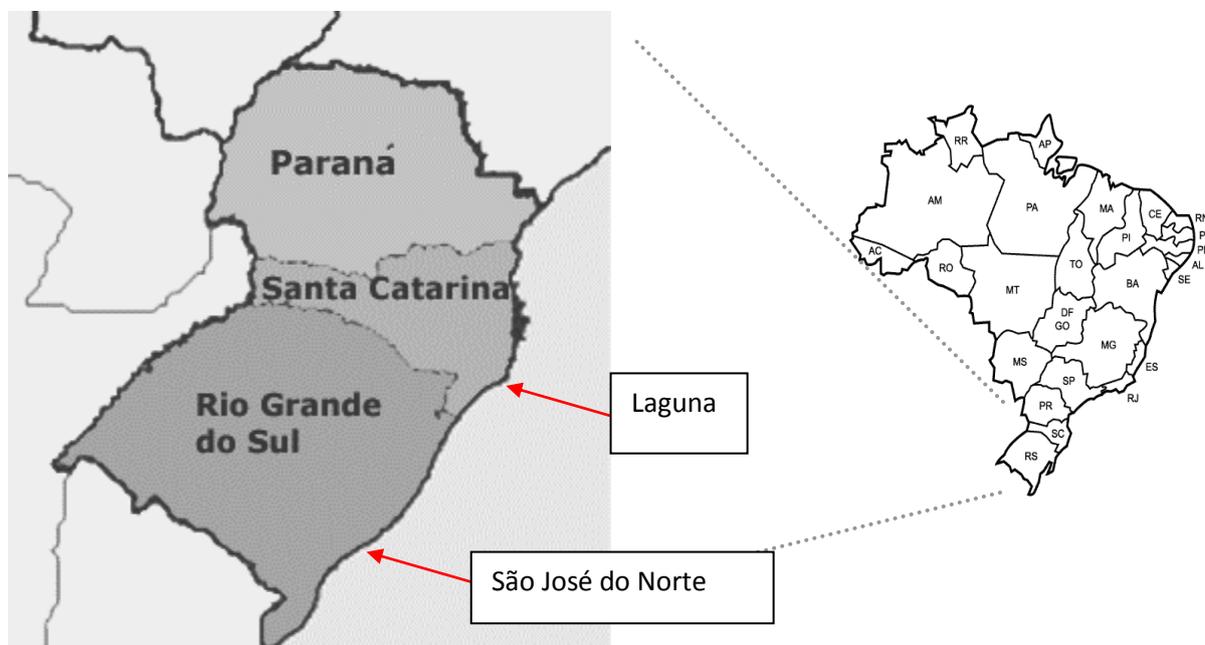


FIGURA 3: Mapa de distribuição da espécie *Ctenomys minutus*, desde Laguna em Santa Catarina até São José do Norte no Rio Grande do Sul.

Das características morfológicas pode-se apontar a coloração variando desde castanho escuro até amarelo, possuindo, em geral, tamanho mediano (FONSECA, 2003). Os jovens com dois ou três meses de idade apresentam coloração mais clara que a maioria dos adultos (FONSECA, 2003).

Assim como na maioria das espécies de roedores subterrâneos, são solitários e sedentários, realizando a maior parte de suas funções vitais nas galerias dos túneis que escavam. A dispersão se dá pelos jovens que se deslocam para áreas periféricas às dos adultos e sub-adultos. Com base em estudos de populações foram constatados maior número de fêmeas que de machos (FONSECA, 2003; GASTAL, 1994; MARINHO E FREITAS, 2000).

Os machos são maiores que as fêmeas evidenciando o dimorfismo sexual (MARINHO E FREITAS, 2000; RUI E GASTAL, 1997), sendo que o período reprodutivo inicia em setembro e segue até outubro (GASTAL, 1994).

Os indivíduos de *Ctenomys minutus* preferem áreas mais abertas e inclinadas para construção de túneis, o que pode estar relacionada com proteção a enchentes nos períodos de chuvas. O ângulo de inclinação pode estar relacionado ao tipo de solo sendo maior em solos mais compactos e menor em solos menos compactos (GASTAL, 1994).

Por ocuparem um habitat com características específicas e possuírem distribuição restrita, que acabam se aproximando significativamente de centros urbanos, essas populações tornam-se potencialmente ameaçadas pelo desenvolvimento das cidades, tanto pela ocupação das áreas para agricultura como para loteamentos. Além disso há evidências de que esta é uma espécie sensível a danos genético causados por fatores ambientais (HAUSER et al., 2002).

Assim como na maioria das espécies do gênero, *C. minutus* possuem notável variação cariotípica (GAVA E FREITAS, 2004). Segundo estudos realizados nas populações ao longo da distribuição desta espécie foram encontradas 11 formas cariotípicas diferentes ($2n=50a$ e b ; $49a$ e b ; $48a$ e b ; $47a$ e b ; $46a$ e b , e 42). A distribuição cariotípica é bastante interessante, isto porque $2n=50$ é encontrado nas duas extremidades de distribuição das populações e mais ou menos ao centro encontra-se $2n=42$ (FIGURA 4), esta proporção pode estar associada a rearranjos Robertsonianos e fusões *in tandem*, e no caso de um mesmo número diplóide,

porém com cariótipos descritos como “a” ou “b”, o que os diferencia são rearranjos em cromossomos distintos (FREITAS, 1997; FREYGANG et al., 2004).

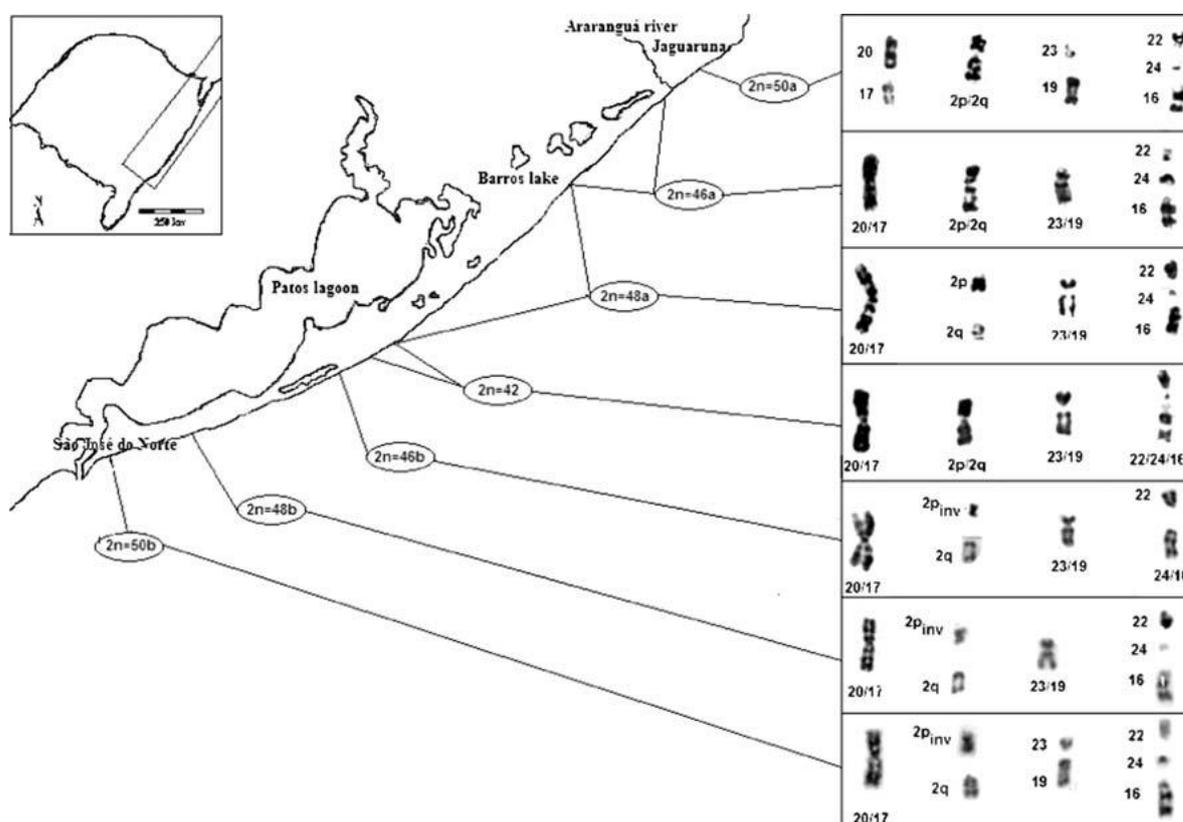


FIGURA 4: Distribuição geográfica das populações associado ao padrão de distribuição cariotípica destas (Freitas, 1997).

Esta diversidade cariotípica revela a ocorrência de polimorfismos cromossômicos, estes podem representar o reflexo de um isolamento geográfico entre diferentes populações desta espécie (FREITAS, 1997; FREITAS, 2006; FREYGANG et al., 2004; GAVA E FREITAS, 2002, 2003).

Segundo Freygang e colaboradores (2004) o padrão de distribuição geográfica das populações associado a distribuição cariotípica possuem duas possíveis explicações, a primeira seria de que os cariótipos surgiram independentes e a segunda seria deduzida pela parcimônia, sendo que 2n=48b apareceu inicialmente dentro da área de distribuição de 2n=50b e através de uma inversão produziu o cariótipo 2n=48a e independentemente por uma fusão originou 2n=46b.

Assim a distribuição das diferentes formas cariotípicas ao longo da distribuição da espécie parece estar relacionada com eventos de formação da Planície Costeira (FREITAS, 1997; FREYGANG et al., 2004), sendo hoje as principais barreiras encontradas entre as populações os rios Mampituba e Araranguá, por terras baixas e alagadiças de Palmares do Sul (FREITAS, 1995a) e a mais recente caracteriza-se por ação antrópica, a rodovia RS30 junto a Osório no litoral norte do Rio grande do Sul.

1.2 O GÊNERO *ATHENE*

As corujas ocorrem em praticamente todos os continentes exceto a Antártida, provavelmente originárias do Velho Mundo. Existem em todo o mundo 212 espécies, número que pode aumentar devido às últimas revisões sistemáticas e novas descobertas. As semelhanças tanto com bacuraus quanto com gaviões podem ser interpretadas em parte como analogias, relacionadas à vida noturna ou ao modo de caçar. Já existiam corujas desde o Eoceno, pois os fósseis mais antigos são estimados datarem de pelo menos 24 milhões de anos (SICK, 1997).

As corujas do gênero *Athene* possuem uma distribuição bastante ampla, ocorrendo em quase todos os continentes, exceto Austrália e Antártida. No mundo todo existem quatro espécies deste gênero: *Athene noctua*; *Athene brama*; *Athene blewitti* e *A. cunicularia*. No geral, são aves pequenas, de coloração marrom salpicada de branco, com olhos amarelos e sobrancelhas claras. Na mitologia grega, o mocho-galego (*Athene noctua*) era a espécie símbolo da Deusa Atena. Ao contrário do que se pensa, nem todas as corujas são noturnas. Dois terços das espécies são noturnas e o terço restante são diurnas (SICK, 2001).

1.2.1 *Athene cunicularia*

Dentre as várias espécies de corujas existentes no Brasil, a coruja buraqueira *Athene cunicularia* se destaca pela proximidade com o homem e adaptação ao meio urbano. A coruja buraqueira, pertence à família Strigidae e habita campos, pastos e restingas (SICK, 1997); sendo comuns nas cidades sobre cercas e fios. De hábitos mais diurnos, tem como peculiaridade nidificar em buracos no chão ou cupinzeiros abandonados. As covas possuem em torno de 1,5 a 3,0 m de profundidade e 30 a 90 cm de largura. Ao redor acumula estrume e se alimenta dos insetos atraídos pelo cheiro.

A plumagem apresenta coloração cor de terra, às vezes, avermelhada, estratégia natural para se camuflar no solo. Ao contrário da maioria das corujas o macho é ligeiramente maior que a fêmea e as fêmeas são normalmente mais escuras que os machos (ANTAS, 2005; SIGRIST, 2007).

Sua ocorrência vai desde o Canadá até a Terra do Fogo, bem como em quase todo o Brasil com exceção da bacia Amazônica (FIGURA 5; SICK, 1997).



FIGURA 5: Mapa de distribuição da espécie *Athene cunicularia* desde o Canadá até a Terra do Fogo.

As corujas buraqueiras botam, em média de 6 a 11 ovos; o número mais comum é de 7 a 9 ovos. A Incubação dura de 28 a 30 dias e é executada somente pela fêmea. Enquanto a fêmea bota os ovos, o macho providencia a alimentação e a proteção para os futuros filhotes. Os cuidados da cria, enquanto ainda estão no ninho é tarefa do macho. Quando os filhotes estão com 14 dias podem ser vistos empoleirando a entrada da cova, esperando pelos adultos e pela comida. Os filhotes saem do ninho com aproximadamente 44 dias e começam a caçar insetos quando estão com 49 a 56 dias. (ANTAS, 2005; SICK, 1997).

De modo geral, a dieta da coruja-buraqueira constitui-se de roedores, morcegos, répteis, anfíbios, insetos e pequenas aves. No Brasil grande parte de sua dieta é constituída de invertebrados, como insetos (SICK, 1997). Motta-Junior (2006) considera a coruja-buraqueira como sendo espécie insetívora em relação à quantidade de presas consumidas, mas em relação a biomassa, qualifica a espécie como sendo predadora predominantemente de pequenos roedores e portanto carnívora.

Uma característica da digestão nas corujas é a coalizão dos restos não digeridos de presas em pelotas denominadas egagrópilas, regurgitadas pelo animal após sua formação. Tais restos (ossos, anexos epidérmicos, quitinas, entre outros) encontram-se em geral em bom estado para identificação. Isso torna a coleta e a análise de egagrópilas um método seguro para caracterizar a dieta de muitas espécies de corujas. No caso de animais de maior porte, os ossos mais longos e mais rígidos tais como o crânio são descartados em pontos próximos a toca (SICK, 1997).

As corujas consomem uma grande variedade de presas de vários níveis tróficos e quase não são predadas. São, portanto, elementos de grande importância na teia trófica dos ecossistemas em que estão inseridos e estudos sobre a ecologia alimentar desses organismos se mostram de grande valor para o entendimento das relações de transferência de energia em diferentes ecossistemas. Os estudos das dietas desses predadores são ainda valiosos para a aquisição e complementação de dados sobre a distribuição de muitas espécies, em especial pequenos mamíferos.

Apesar disto, poucos estudos sobre estes foram realizados nas regiões tropicais (MOTA JÚNIOR, 1996).

1.3 DNA MITOCONDRIAL

O DNA mitocondrial animal (DNAm_t; FIGURA 6), é uma molécula pequena (15-20Kb), circular, composta de cerca de 37 genes codificantes. Não possui nada em especial em sua composição química que o diferencie do DNA nuclear, entretanto, possui um código genético próprio. Por outro lado sua organização é grandemente econômica, já que somente 10% de sua totalidade é não codificante. Seu genoma é haplóide devido sua herança ser estritamente materna, por isso não está submetido a processos de recombinação. O mecanismo pelo qual a mitocôndria paterna é excluída do embrião logo após a fertilização ainda não está bem esclarecida, tendo permanecido obscuro o mecanismo de eliminação (CANN et al, 1987).

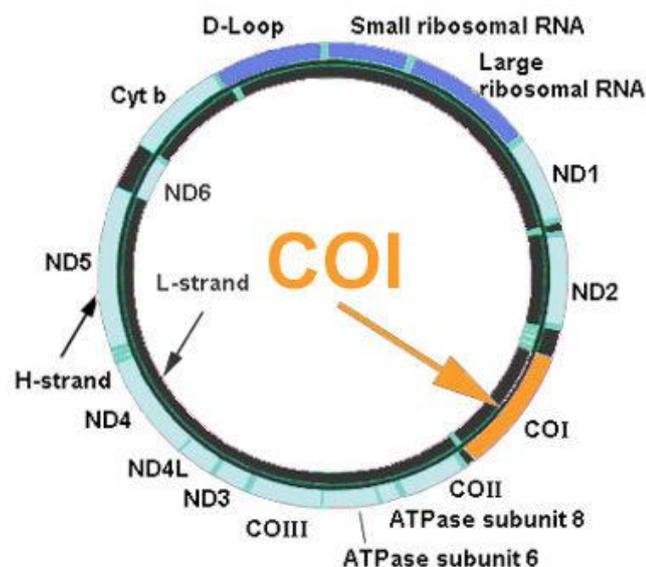


FIGURA 6: Esquema de genoma mitocondrial com ênfase no gene citocromo oxidase subunidade I (Retirado de www.barcodinglife.com/.../images/mito_genome.gif).

O DNA mitocondrial tem uma taxa de evolução 5 a 10 vezes maior que o DNA nuclear, o que implica em uma hipervariabilidade entre a população humana. A alta taxa de substituição de bases possibilita que seja observada uma ou mais diferenças na seqüência nucleotídica das regiões hipervariáveis do mtDNA quando indivíduos da linhagem materna de uma mesma família são comparados (JARRETA, 1999).

Por outro lado, o mtDNA está presente em grande quantidade em todas as células (entre 1.000 e 10.000 moléculas de mtDNA por célula), o que lhe confere um menor risco de degradação em relação ao DNA nuclear. Por ele estar protegido por uma membrana, torna-se extremamente importante quando do estudo de espécimes biológicas antigas, cujo DNA nuclear, em cópia única, em geral, encontra-se degradado (DE ROBERTIS, 2003).

O gene da citocromo oxidase subunidade I, é extremamente importante no mecanismo energético das espécies, pois faz parte da cadeia transportadora de elétrons e é um dos mais estudados (BROWN, 1985).

2 OBJETIVO

Nos seguintes tópicos são apresentados os objetivos geral e específicos que motivam o desenvolvimento deste trabalho.

2.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho tem por objetivo o estudo da predação de roedores fossoriais do gênero *Ctenomys* por aves rapinantes da espécie *Athene cunicularia* e relacionar possíveis fatores ambientais e biológicos que podem ter influência na caracterização da presa.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar qual espécie do gênero *Ctenomys* é predada já que *C. minutus* e *C. flamarioni* ocorrem em simpatria no litoral norte do Rio Grande do Sul e os demais estudos sobre dieta apontam apenas gênero, não havendo portanto, dados sobre espécies.
- Identificar possíveis relações entre o aumento da predação e a época de nascimento dos tuco-tucos.
- Relacionar a taxa de predação observada com as encontradas em trabalhos já realizados em que foram encontradas evidências do gênero *Ctenomys*.
- Relacionar a localização das tocas com a predação.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Descritos nos tópicos a seguir estão os materiais e métodos utilizados para o desenvolvimento do trabalho durante toda sua execução desde a coleta das amostras até a extração, amplificação e análise do DNA.

3.1 ÁREA DE ESTUDO

A área de coleta compreende a faixa do litoral norte do Rio Grande do Sul, Brasil, que vai do município de Imbé até a Praia do Barco, localizada no município de Capão da Canoa. A distância retilínea total é de 40 km entre os pontos de início e término de coletas.

Segundo Tomazelli (2000), a Planície Costeira do Rio Grande do Sul, pertencente ao pacote sedimentar Cenozóico do RS representado pela Bacia Pelotas, estende-se através de uma área de aproximadamente 33.000 km² e alcança em alguns setores uma largura de mais de 100 km. A largura da costa praticamente retilínea, possui uma orientação NE-SW e se estende por uma distância de aproximadamente 620 km, deste Torres, no extremo norte (29°S), até a desembocadura do Arroio Chuí, no extremo sul (34°S). Ao longo desta distância a costa de característica baixa arenosa, é interrompida de forma permanente em dois locais: as desembocaduras da Laguna de Tramandaí e da Laguna dos Patos.

O clima da região é definido como temperado, úmido, e com uma distribuição de chuvas homogênea ao longo do ano (aproximadamente 1.300 mm anuais). Este local encontra-se submetido por um regime bimodal de ventos de alta energia sendo o predominantemente o de incidência NE o que acarreta na migração das dunas eólicas no sentido SW.

O Rio Grande do Sul, a despeito da extensão de seu litoral e da fragilidade e importância deste ambiente, possui sua região costeira extremamente pouco conhecida e estudada (GIANUCA 1997). Devido ao seu uso como área de veraneio,

o litoral do Rio Grande do Sul, principalmente em sua porção norte (entre os balneários de Tramandaí e Torres), encontra-se altamente modificado caracterizando-se como um mosaico de ambientes naturais e antrópicos (urbano e agropecuário). Essas alterações acarretaram, ao longo da história, na modificação da estrutura ambiental, resultando na eliminação de determinados ambientes e na criação de outros.

A vegetação das dunas marítimas apresenta uma distribuição heterogênea influenciada pela salinidade e condições de drenagem do sistema de dunas, possuindo caracteres adaptativos para colonizar este tipo de hábitat, tais como hábito reptante, folhas pequenas, duras ou pilosas e mecanismos de predação (plantas carnívoras). É característico um gradiente florístico com áreas de quase ausência de vegetação (zona de varrido, dunas frontais e vertentes com exposição oceânica de dunas secundárias) até áreas de grande concentração de biomassa vegetal (áreas de baixadas úmidas e campo arenosos) (BROWN & MCLACHLAN 1990). É essa variação da vegetação que caracteriza os ambientes e influencia na composição da fauna das dunas do litoral norte do Rio Grande do Sul.

3.2 AMOSTRAGEM

A amostragem foi feita em seis meses de novembro de 2010 a abril de 2011, sendo a periodicidade mensal.

Os pontos de coleta podem ser caracterizados em três áreas distintas, a primeira sendo no campo de dunas da Praia do Barco, um extenso campo arenoso com pouca influência antrópica. O segundo é a região da primeira linha de dunas que divide a praia da zona urbana seguindo desde Imbé até a Praia do Barco e há influência antrópica considerada média quando comparadas as três áreas. E por último a região ao qual compreende uma quadra de terrenos arenosos em meio à zona urbana, cercada por residências no balneário de Capão Novo, onde a influência antrópica é bastante grande, é uma região preservada onde se instalou o

Projeto Coruja Buraqueira para monitoramento das aves em função do grande aglomerado de tocas que estas constroem no terreno.

O monitoramento era visual e os crânios eram procurados em uma distância de até 3,0 m no entorno das tocas. Estes se encontravam solitários na areia ou em meio as egagrópilas (pelotas de regurgito de corujas), podendo estar completos ou sem a presença de maxila ou presença apenas desta. As maxilas encontradas junto aos crânios de tamanho igual ou parecidas foram tratadas como um único indivíduo devendo ser percebidas diferenças discrepantes para serem julgados de indivíduos distintos.

Os crânios encontrados foram armazenados em potes plásticos e identificados com data de coleta e localização dada por Sistema de Posicionamento Global (GPS).

3.2 EXTRAÇÃO, AMPLIFICAÇÃO E SEQÜENCIAMENTO

Para a extração foram testados três métodos: o Kit de extração de DNA QIAmp DNA Stool mini kit e os protocolos de extração CTAB e Fenól-clorofórmio modificados conforme descritos a seguir.

PROCEDIMENTO DE EXTRAÇÃO CTAB: As amostras foram identificadas na tampa do tubo; o material foi moído com nitrogênio líquido até ficar com aspecto de farinha; foram adicionados 500 μ l de solução de extração e os tubos foram agitados para homogeneização das amostras; mais 20 μ l de Proteinase K foram adicionados aos tubos os quais foram homogeneizados e incubados em banho-maria a 60°C overnight; após foi adicionado mais 20 μ l de Proteinase K e incubado em banho-maria a 60°C por mais 2 horas sendo homogeneizados durante o processo de incubação; depois da digestão foram adicionados 500 μ l de clorofórmio:álcool isoamílico (CIA) (24:1,v/v) em cada amostra e os tubos foram agitados levemente por inversão até a formação de uma emulsão; após foram centrifugados a 15.000 rpm por 10 min; após centrifugação foi transferida a maior quantidade possível da fase aquosa (sobrenadante) para um novo tubo; foram adicionados 2/3 do volume

de etanol absoluto e para a precipitação do DNA as amostras foram incubadas no freezer a -20°C por 1 hora; depois de precipitadas as amostras foram centrifugadas à 15.000 rpm por 10 minutos e descartado o sobrenadante; o pellet de DNA foi lavado em 500 μl de etanol 70% e centrifugado à 15.000 rpm por 10 minutos e descartado o sobrenadante gentilmente e deixado a temperatura ambiente sobre a bancada coberto com papel toalha para secar o precipitado de DNA; por fim solubilizado em 30 μl de TE foi incubado por no mínimo 20 minutos a 60°C para auxiliar na solubilização.

PROCEDIMENTO DE EXTRAÇÃO FENOL-CLOROFÓRMIO: As amostras foram identificadas na tampa do tubo; o material foi moído com nitrogênio líquido até ficar com aspecto de farinha; a amostra foi adicionado tampão lise de extração (o volume do tampão era 4x o volume da amostra) com 10 μl de Proteinase K ;os tubos foram homogeneizados e incubados em banho-maria a 60°C overnight; após foi adicionado mais 10 μl de Proteinase K e incubado em banho-maria a 60°C por mais 2 horas sendo homogeneizados durante o processo de incubação; depois da digestão foi adicionado 400 μl de fenol e centrifugado por 15 minutos à 12.000 rpm; o sobrenadante foi transferido para um tubo limpo e adicionado 100 μl de TE e centrifugado novamente por 10 minutos à 12.000 rpm; 400 μl de uma mistura Fenol-Clorofórmio (1:1) foi adicionado, misturando por inversão do tubo com cuidado por 10 minutos. Centrifugados por 10 minutos à 12.000 rpm o sobrenadante foi transferido para um tubo limpo e adicionado um volume igual de clorofórmio e misturado cuidadosamente por 10 minutos, centrifugando novamente 10 minutos à 12.000 rpm. Transferindo a fase aquosa para um novo tubo e adicionando o volume de 1/10, de uma solução de 1% de NaCl 5 M e 2,5x o volume total de etanol 100% gelado as amostras foram incubadas em geladeira 4°C por 1 hora. Depois de precipitado o material foi centrifugado por 10 minutos a 12.000rpm. Novamente foi descartado o sobrenadante e lavado o pellet três vezes com 400 μl de etanol 70% gelado, centrifugando por 10 minutos à 12.000rpm. O pellet foi seco, invertendo o tubo por 10 minutos (cuidando para não perder completamente o pellet). Por fim o pellet foi suspenso em 30 μl de TE e incubado por alguns minutos a 60°C para auxiliar na solubilização.

A reação de PCR foi realizada para isolar e amplificar, a partir do DNA genômico total, a região citocromo oxidase I do genoma mitocondrial das amostras de ambos laboratórios de maturação, utilizando os primers COI que flanqueiam essa região. Ao fim da reação de PCR, as 21 amostras foram novamente submetidas a eletroforese em gel de agarose a 1% para verificar a qualidade dos produtos do PCR. O mix utilizado para PCR continha 6 µl de dH₂O; 1 µl de 10X Buffer; 1 µl de dNTP (1.25uM); 1 µl de Primers (5uM) e 1 µl de Taq-polimerase. Em cada tubo foram diluídos 1 µl de DNA em 9 µl do mix.

Com amplificação concluída o seqüenciamento foi realizado pelo laboratório Macrogen situado em Seul na Coréia, trata-se de uma empresa que trabalha com seqüenciamento, biochips, transgênicos além da bioinformática. Após seqüenciamento, retornaram os gráficos com os picos que correspondem a análise qualitativa das bases nitrogenadas.

3.4 ANÁLISE DE DADOS

As seqüências analisadas estão localizadas no gene da citocromo oxidase subunidade I do genoma mitocondrial. Essas seqüências chamadas de COX1 foram checadas visualmente no programa Chromas o qual gera um eletroferograma que confecciona uma interface gráfica para melhor visualização de picos e posições das bases. Posteriormente foram alinhadas automaticamente com o programa Clustal X implementado no MEGA 4.2. Em seguida, as amostras foram submetidas ao BLAST para a confirmação da identidade com o gene da citocromo oxidase I.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para uma melhor análise dos dados estes foram divididos em dois tópicos, primeiro as análises e resultados obtidos a partir dos dados de coleta e observação que se referem à ecologia e relação interespecífica das espécies estudadas no presente trabalho, e o segundo tópico que se refere ao trabalho genético realizado em laboratório com os crânios do gênero *Ctenomys* coletados em campo.

4.1 ASPECTOS ECOLÓGICOS

As coletas foram realizadas de Novembro de 2010 a Abril de 2011, totalizando um período de seis meses. Nesse período foram monitoradas um total de trinta e seis tocas de coruja, deste total vinte e três tocas permaneceram ocupadas do início ao fim das coletas, três tocas foram abandonados, uma foi encontrada destruída e com evidências de predação de duas corujas e nove tocas foram construídas após início das coletas (TABELA 1). Dentre as nove novas tocas, evidenciou-se que cinco destas foram construídas por filhotes próximas às dos pais.

Tabela 1: Dados das coletas realizadas no período de Novembro de 2010 a Abril de 2011.

DADOS DE COLETA					
Ponto	Datas de Coleta	Localização das tocas	Coordenadas		Nº de Crânios
1	19/11 - 15/12 - 27/01 - Destruído e corujas mortas	Campo de dunas	29°41'40,4" S	049°58'42,5" W	0
2	17/11 - 19/11 - 11/12 - 26/01 -11/02 - 21/03 - 30/04	Projeto coruja buraqueira	29°43'47,0" S	049°59'55,5" W	0

3	17/11 - 19/11 - 11/12 - 26/01 -11/02 - 21/03 - 30/04	Projeto coruja buraqueira	29°43'46,4" S	049°59'55,9" W	1
4	17/11 - 19/11 - 11/12 - 26/01 -11/02 - 21/03 - 30/04	Projeto coruja buraqueira	29°43'46,3" S	049°59'55,0" W	0
5	17/11 - 19/11 - 11/12 - 26/01 -11/02 - 21/03 - 30/04	Projeto coruja buraqueira	29°43'46,2" S	049°59'55,0" W	1
6	17/11 - 19/11 - 11/12 - 26/01 -11/02 - 21/03 - 30/04	Projeto coruja buraqueira	29°43'46,1" S	049°59'55,0" W	1
7	17/11 - 19/11 - 11/12 - 26/01 -11/02 - 21/03 - 30/04	Projeto coruja buraqueira	29°43'44,0" S	049°59'54,9" W	1
8	17/11 - 19/11 - 11/12 - 26/01 -11/02 - 21/03 - 30/04	Projeto coruja buraqueira	29°43'43,8" S	049°59'55,6" W	2
9	17/11 - 19/11 - 11/12 - 26/01 -11/02 - 21/03 - 30/04	Projeto coruja buraqueira	29°43'44,6" S	049°59'56,0" W	1
10	17/11 - 19/11 - 11/12 - 26/01 -11/02 - 21/03 - 30/04	Projeto coruja buraqueira	29°43'44,8" S	049°59'56,3" W	0
11	17/11 - 19/11 - 11/12 - 26/01 -11/02 - 21/03 - 30/04	Projeto coruja buraqueira	29°43'45,9" S	049°59'57,0" W	0
12	17/11 - 19/11 - 11/12 - 26/01 -11/02 - 21/03 - 30/04	Projeto coruja buraqueira	29°43'45,9" S	049°59'57,0" W	0
13	17/11 - 19/11 - 11/12 - 26/01 -11/02 - 21/03 -	Projeto coruja buraqueira	29°43'46,4" S	049°59'56,9" W	0

	30/04				
14	17/11 - 19/11 - 11/12 - 26/01 -11/02 - 21/03 - 30/04	Beira mar	29°46'09" S	050°01'05" W	0
15	17/11 - 19/11 - 11/12 - 26/01 -11/02 - 21/03 - 30/04	Beira mar	29°46'08,9" S	050°01'04,8" W	0
16	17/11 - 19/11 - 11/12 - 26/01 -11/02 - 21/03 - 30/04	Beira mar	29°46'08,9" S	050°01'04,6" W	3
17	19/11 - 10/12 - 26/01 - 12/02 - 22/03 - 31/03 - 30/04	Beira mar	29°57'43" S	050°06'49,1" W	0
18	19/11 - 10/12 - 26/01 - 12/02 - 22/03 - 31/03 - 30/04	Beira mar	29°57'36" S	050°06'46" W	0
19	19/11 - 10/12 - 26/01 - 12/02 - 22/03 - 31/03 - 30/04	Beira mar	29°57'32" S	050°06'44" W	0
20	19/11 - 10/12 - 26/01 - 12/02 - 22/03 - 31/03 - 30/04	Beira mar	29°57'32" S	050°06'44,3" W	0
21	19/11 - 10/12 - 26/01 - 12/02 - 22/03 - 31/03 - 30/04	Beira mar	29°57'32" S	050°06'44,5" W	0
22	19/11 - 10/12 - 26/01 - 12/02 - 22/03 - 31/03 - 30/04	Beira mar	29°57'26" S	050°06'41,8" W	3
23	19/11 - 10/12 - 26/01 - 12/02 - 22/03 - 31/03 - 30/04	Beira mar	29°51'00" S	050°03'36" W	2
24	19/11 - 10/12 - 26/01 -	Beira mar	29°50'59" S	050°03'36" W	0

	12/02 - 22/03 - 31/03 - 30/04				
25	10/12 ----- ABANDONADO	Beira mar	29°53'23" S	050°04'43" W	0
26	10/12 ----- ABANDONADO	Campo de dunas	29°42'49,07" S	049°59'16,93" W	0
27	10/12 ----- ABANDONADO	Campo de dunas	29°42'48,47" S	049°59'15,96" W	0
28	15/12 - 27/01 - 11/02 - 21/03 - 31/03 - 30/04	Campo de dunas	29°41'55" S	049°58'52" W	3
29	15/12 - 27/01 - 11/02 - 21/03 - 31/03 - 30/04	Campo de dunas	29°41'56,1" S	049°58'52" W	0
30	26/01 - 11/02 - 22/03 - 31/03 - 30/04	Beira mar	29°45'44" S	050°00'51" W	0
31	26/01 - 11/02 - 22/03 - 31/03 - 30/04	Beira mar	29°45'43" S	050°00'50" W	1
32	26/01 - 11/02 - 22/03 - 31/03 - 30/04	Beira mar	29°57'43" S	050°06'49,8" W	0
33	26/01 - 11/02 - 22/03 - 31/03 - 30/04	Beira mar	29°57'26" S	050°06'42" W	0
34	26/01 - 11/02 - 22/03 - 31/03 - 30/04	Beira mar	29°57'26" S	050°06'41,4" W	0
35	11/02 - 21/03 - 31/03 - 30/04	Campo de dunas	29°42'17" S	049°59'14" W	1
36	11/02 - 21/03 - 31/03 - 30/04	Campo de dunas	29°42'18" S	049°59'14" W	1

As tocas estavam distribuídas em três ambientes distintos, dezessete delas estavam na faixa litorânea que compreende a primeira linha de dunas, sete encontravam-se em um extenso campo de dunas na Praia do Barco e as outras doze em uma área de preservação onde foi implementado o Projeto Coruja

Buraqueira, sendo que esta área abrange uma quadra no meio urbano de Capão Novo.

Durante os meses de coleta observou-se um pico de predação de tuco-tucos nos meses que correspondem ao final da primavera e início do verão (FIGURA 7), onde Fernández (2002) descreveu fêmeas em período de amamentação. A maior predação nesta época em função do nascimento dos filhotes é sustentada pela maior parte dos crânios encontrados serem de pequeno e médio porte, sendo encontrados apenas quatro de um total de 22 crânios de grande porte.

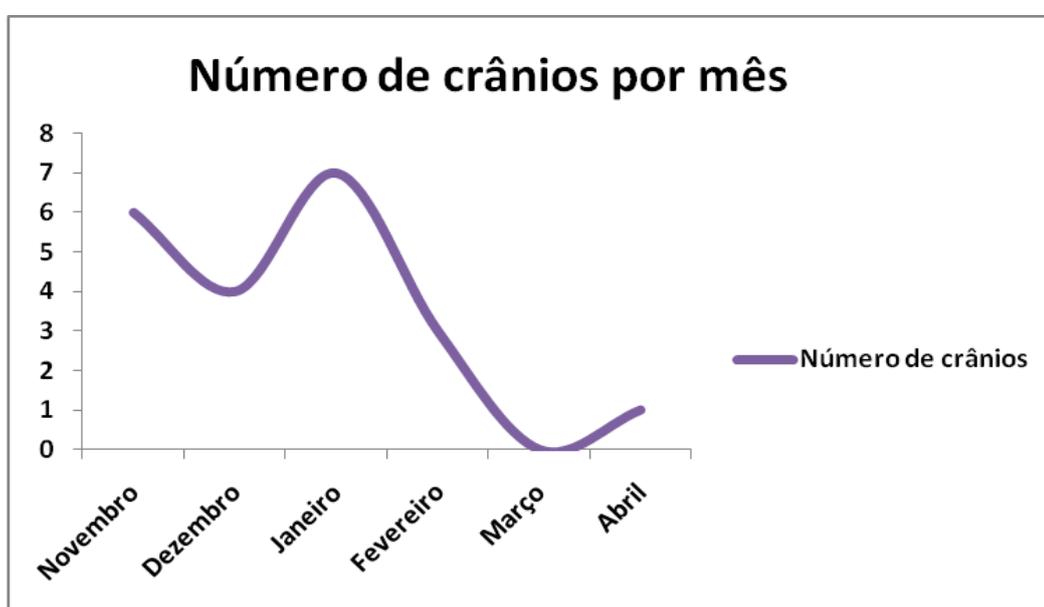


FIGURA 7: Número de crânios coletados por mês evidenciando o pico de predação entre o fim da primavera e início do verão.

É possível perceber a partir dos dados coletados uma relação entre a localização da toca e a caracterização da dieta (FIGURA 8). Nas tocas que estavam localizadas na beira da praia a dieta se compôs predominantemente de crustáceos, peixes e répteis, refletindo em uma porcentagem menor em relação ao número de tocas pelo número de crânios coletados (52,94%). Já nas tocas localizadas no campo de dunas da Praia do Barco foi observado maior número de ossos que caracterizam aves e répteis sendo uma proporção menor de peixes e crustáceos e aumentando a proporção de predação de tuco-tucos (57,14%). Por fim no ambiente mais distinto encontrado que é a área correspondente ao Projeto Coruja Buraqueira, uma área que sofre maior ação antrópica por estar longe da praia e cercada pela

zona urbana, houve o maior índice de predação de tuco-tucos (58,33%) além de muitas evidências de predação de aves e répteis. Neste local o que mais chama atenção é a enorme quantidade de lixo encontrado nas tocas, existindo fortes evidências de que restos de alimentos jogados nos lixos da região também fazem parte da dieta destas aves, pois dentro das tocas foram encontrados restos de ossos de galinha e de alimentos preparados nas residências.

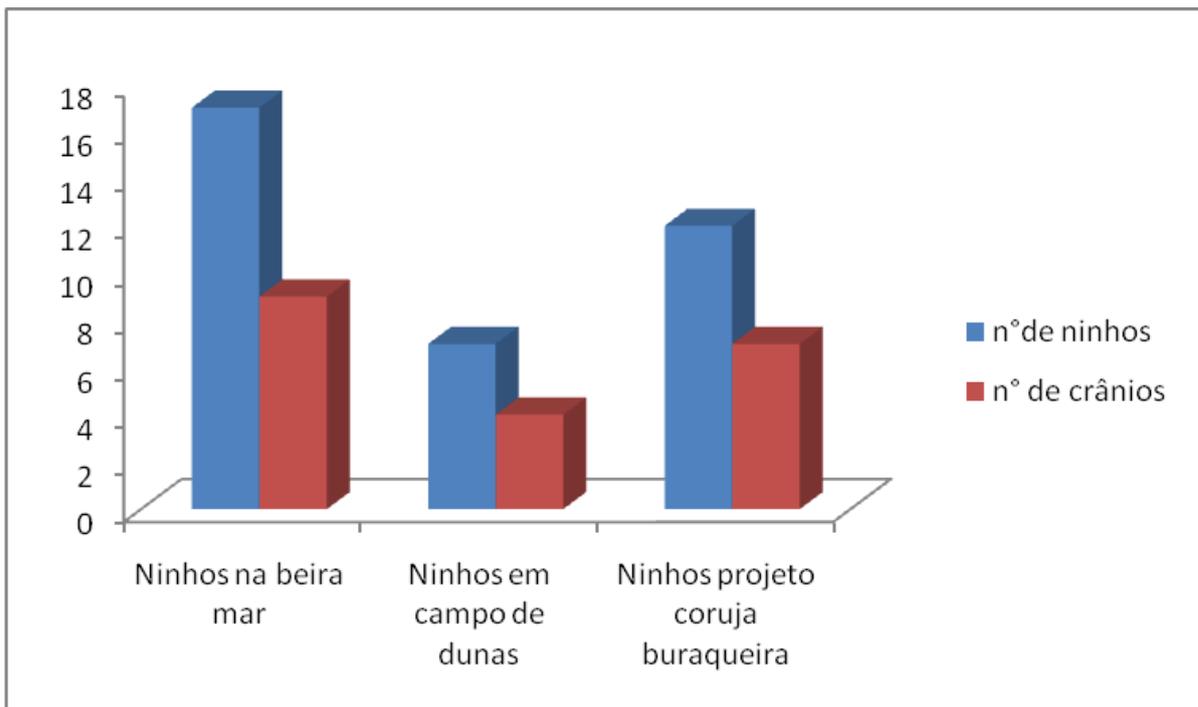


FIGURA 8: Número de crânios coletados de acordo com a localização das tocas.

Segundo Andrade et al. (2004), em um estudo na Argentina onde foi monitorada uma toca com dois indivíduos por um mês observou-se que a segunda maior biomassa representada na dieta destas corujas era composta por roedores do gênero *Ctenomys* apesar destes comporem apenas 2% da dieta das corujas. Já no estudo realizado na região do litoral norte do Rio Grande do Sul que vai de Arroio Teixeira até Capão Novo Village, foram coletados quatro crânios que correspondem aos roedores do gênero *Ctenomys* em um período de dois anos de trabalho (ZILIO, 2006).

A partir dos estudos já realizados pode-se portando observar que apesar da pequena quantidade de crânios de tuco-tucos encontrados nas tocas durante o

período de coletas estes indivíduos correspondem à grande biomassa da dieta das corujas. Outra constatação é a de que a proximidade com o mar influencia na dieta, esse fator pode ser explicado pelo gasto de energia para deslocamento que é maior para indivíduos que estão alocados em zonas mais distantes, para isto estes procuram presas que representem uma biomassa significativa para compensar a perda de energia no deslocamento.

Com relação à posição das tocas das corujas observou-se que todas as tocas monitoradas encontravam-se com abertura posicionada ao lado noroeste da duna (FIGURA 8). Esta posição da entrada da toca deve estar relacionada ao vento predominante na região ser nordeste assim as tocas ficam protegidas da ação dos ventos que são os mais fortes e que sopram por um período maior de tempo no litoral do Rio Grande do Sul.

Outra característica das dunas escolhidas para as tocas é a vegetação, as corujas escolhem pontos mais baixos das dunas ficando mais protegidas da ação dos ventos e das vistas dos predadores além de preferirem dunas vegetadas devido a fixação do solo que previnindo a erosão de areia dentro da toca (FIGURA 9).



FIGURA 9: Posição da entrada das tocas e características das dunas escolhidas para os ninhos.

As corujas costumam manter suas tocas limpas, alimentando-se em pontos próximos a toca e geralmente mais altos. Nestes pontos é que encontram-se as egagrópilas e os restos das presas.

De acordo com o comportamento observado no decorrer das coletas as corujas tendem a abandonar as tocas ao sinal de perigo alternando o escape entre três pontos, dois que utiliza também para a alimentação e a própria toca. Defendem sua toca e atacam apenas quando há presença de filhotes, onde estes correm para dentro das tocas e os adultos protegem a entrada abrindo as asas e batendo o bico para dar o alerta. Se o predador insiste elas levantam vôo e atacam com as garras que são bastante afiadas e o bico.

4.2 ANÁLISES GENÉTICAS

O trabalho em laboratório foi realizado em três meses. Neste período de tempo foram testados três métodos sendo que estes repetidos várias vezes para cada amostra. Ao final da extração, amplificação, seqüenciamento e análise das amostras apenas uma delas funcionou.

Das vinte e uma amostras de crânio foi extraído DNA de apenas cinco com o protocolo CTAB modificado de Doyle & Doyle.

Os outros dois métodos testados no trabalho não funcionaram para extração em osso.

Das cinco amostras que tiveram seu DNA extraído, amplificado e seqüenciado em apenas três foi possível identificar os picos e a base nitrogenada correspondente no programa Chromas. Quando a fita foi transferida para o programa Clustal X. implementado no MEGA 4.2 uma das amostras foi excluída por ter uma região codificante muito pequena e portanto não era possível uma identificação precisa e confiável. A segunda amostra foi extraída com sucesso e possui uma região longa e bem definida sendo passível de identificação, mas o DNA encontrado era de um nematódeo parasita de mamíferos com 99% de chances de ser do gênero

5 CONCLUSÃO

A partir da análise dos resultados obtidos durante a execução do trabalho podem ser tiradas algumas conclusões. Primeiramente pode-se concluir que existe um grande aumento na predação de tuco-tucos na época de natalidade destes devido à fragilidade e menor agilidade dos filhotes no momento em que são atacados.

Existe também relação entre a localização das tocas e a dieta das corujas e a ação antrópica exercida sobre a população interfere na dieta destas aves inserindo novos alimentos que nunca fariam parte da sua alimentação se não houvesse interferência humana. Estes dois aspectos observados abrem campo para melhor investigar as interferências e relações entre a dieta destas aves e a localização das tocas.

O número de crânios coletados condiz com os demais estudos feitos onde foram encontrados ossos pertencentes ao gênero *Ctenomys* sendo vinte e um crânios, portanto, um número bom de amostras pelo período de coletas.

As análises laboratoriais foram insatisfatórias no intuito de alcançar um dos objetivos específicos do trabalho, apesar da dificuldade em extrair o DNA do osso devido a degradação deste e a dificuldade de digestão do osso para extração, uma das amostras foi extraída com sucesso, isto prova que apesar de difícil não é impossível. Através de mais estudos e melhoramento de protocolos pode-se extrair DNA de ossos do crânio e possibilitar uma análise mais detalhada da inter-relação entre as duas espécies.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, A.; SAUTHIER D. E. U. e PARDINAS U. F. J. Vertebrados depredados por La Lechucita Vizcachera (*Athene cunicularia*) en La Meseta de Somuncurá (Río Negro, Argentina). **Hornero** 19(2):91-93, 2004.
- ANTAS, P. T. Z. Aves do Pantanal. **RPPN: Sesc**, 2005.
- AVISE, J.C. Molecular Markers, Natural History, and Evolution. **Chapman and Hall, New York, NY**, 1994, 511 pp.
- BENZIE, J.A.; BALLMENT, E., FORBES, A.T., DEMETRIADES, N.T., SUGAMA, K., MORIA, S. Mitochondrial DNA variation in Indo-Pacific populations of the giant tiger prawn, *Penaeus monodon*. **Mol. Ecol.** 11, 2553– 2569, 2002.
- BROWN, W.M. The mitochondrial genome of animals. In: MacIntyre, R.J. (Ed.), Molecular Evolutionary Genetics. **Plenum, New York, NY**, pp. 95–130, 1985.
- BROWN, A. C., MCLACHLAN, A. Ecology of Sandy Shore. **Amsterdam: Elsevier Sci. Publ**, 1990.
- BUSCH, C.; ANTINUSHI, C.D., DEL VALE, J.C.; KITTLEIN, M.J.; MALIZIA, A.I.; VASSALO, A.I. e ZENUTO, R.R. Population Ecology of Subterranean Rodents. In: LACEY, E.A.; PATTON, J.L. e CAMERON, G.N. (eds.) **Life Underground. The Biology of Subterranean Rodents**. Chicago: The University of Chicago Press p.183-226, 2000.
- CANN, R.L.; STONEKING, M. WILSON, A.C. Mitochondrial DNA and Human Evolution. **Nature** 325 31-36, 1987.
- CASTILLO, A.H.; CORTINAS, M.N. e LESSA, E.P. Rapid diversification of South American tuco-tucos (*Ctenomys*, Rodentia, Ctenomyidae): contrasting mitochondrial and nuclear intron sequences. **J. of Mammalogy**, 86(1): 170-179, 2005.
- CONTRERAS, J.R. El tuco-tuco e sus relaciones com los problemas Del suelo em Argentina. **Idia** 24:14-36, 1973.

- CONTRERAS, L.C. and MC NAB, B.K. Energetics metabolism body size and distribution in subterranean mammals at the organismal and molecular levels. **Allan Liss, New York**, p. 422, 1990.
- COOK, J.A. e LESSA, E.P. Are rates of diversification in subterranean South American Tuco-tucos (Genus *Ctenomys*, Rodentia: Octodontidae) unusually high? **Evolution**, **52 (5)**: 1521-1527, 1998.
- DE ROBERTIS(Jr.), H. P. **Biol. Celular e Molecular**. Guanabara-Koogan: RJ, 2003.
- DEL VALLE, J.C.; LOHFELT, M.I.; COMPAROTONE M.; CID, M.S. and BUSCH, C. Feed selectivity and food preference of *Ctenomys talarum* (tuco-tuco). **J. Mammalian Biology**. 66: 165-173, 2001.
- FERNÁNDEZ, G.P. Análise de estrutura Populacional e Variabilidade Genética em Três Populações de *Ctenomys flamarioni* (Rodentia, Ctenomyidae) Através de *loci* de Microsatélites. **Curso de Pós Graduação em Genética e Biologia Molecular, UFRGS**; Porto Alegre. p.96 (Dissertação de Mestrado), 2002.
- FERNÁNDEZ-STOLZ, GP., STOLZ, JFB. and FREITAS, TRO. Bottlenecks and dispersal in the tuco-tuco-das-dunas, *Ctenomys flamarioni* (Rodentia: Ctenomyidae) in southern Brazil. **J. Mammal.**, vol. 88, no. 4, p. 935-945, 2007.
- FONTANA, CS., BENCKE, GA. and REIS, RE. *Livro Vermelho da Fauna Ameaçada de Extinção no Rio Grande do Sul*. Porto Alegre, EDIPUCRS. 2003, 632p.
- FREITAS, T.R.O. Estudos Citogenéticos e Craniométricos em Três Espécies do Gênero *Ctenomys*. **Curso de Pós Graduação em Genética e Biologia Molecular UFRGS**; Porto Alegre. p.102 (Tese de Doutorado), 1990.
- FREITAS, T.R.O. Geographical variation of heterocromatin in *Ctenomys flamarioni* (Rodentia- Octodontidae) and its cytogenetic relationships with other species of the genus. **Cytogenet. Cell Genet**. 67: 193–198, 1994.
- FREITAS, T.R.O. Geographic distribution and conservation of four species of the genus *Ctenomys* in southern Brazil. **Stud. Neotrop. Fauna** E. 30: 53–59, 1995a.

- FREITAS, T.R.O. Chromosome polymorphism in *Ctenomys minutus* (Rodentia - Octodontidae). **Revista Brasileira de Genética** 20: 1–7, 1997.
- FREITAS, T.R.O. Tuco-tucos (Rodentia, Octodontidae) in Southern Brazil: *Ctenomys lami* Spec. Nov. separated from *C. minutus*. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, 36: 1-8, 2001.
- FREITAS, T.R.O. Cytogenetics status of four *Ctenomys* species in the south of Brazil. **Revista Brasileira de Genética** 126:227–235, 2006.
- FREITAS, TRO. *Ctenomys lami*: the highest chromosomal variability in *Ctenomys* (Rodentia, Ctenomyidae) due to a centric fusion/fission and pericentric inversion system. **Acta Theriol.**, vol. 52, no. 2, p. 171-180, 2007.
- FREYGANG, C.C. Variação cromossômica em *Ctenomys minutus* ao longo de sua distribuição geográfica. **Curso de Pós Graduação em Genética e Biologia Molecular, UFRGS**; Porto Alegre (Dissertação de Mestrado), 2002.
- FREYGANG C. C.; MARINHO J. R. e FREITAS T. R. O. New karyotypes and some considerations about the chromosomal diversification of *Ctenomys minutus* (Rodentia: Ctenomyidae) on the coastal plain of the Brazilian state of Rio Grande do Sul. **Genetica** 121: 125–132, 2004.
- FONSECA, M.B. Biologia Populacional e classificação etária do roedor subterrâneo Tuco-Tuco *Ctenomys minutus* Nehring, 1887 (Rodentia: Ctenomyidae) na Planície Costeira do Rio Grande do Sul. **Curso de Pós Graduação em Ecologia, UFRGS**; Porto Alegre (Dissertação de Mestrado), 2003..
- GALLARDO, M.H. e ANRIQUE, J.A. Populational parameters and burrow system in *Ctenomys malinus brunneus* (Rodentia, Ctenomyidea). **Médio Ambiente** 11(2): 48-53, 1991.
- GASTAL M. L. A. Density, sexual rate and biometrics data from one population of *C. minutus* Nehring, 1887 (Rodentia, Caviomorpha, Ctenomyidae). **Iheringia** 77: 25–34, 1994.
- GAVA, A. e FREITAS T. R. O. Characterization of a hybrid zone between chromosomally divergent populations of *Ctenomys minutus* (Rodentia Ctenomyidae). **Journal of Mammalogy** 83: 843–851, 2002..

- GAVA A. e FREITAS T. R. O. Inter and intra-specific hybridization in tuco-tucos (*Ctenomys*) from Brazilian coastal plains (Rodentia: Ctenomyidae). **Genetica**, 119, 11–17, 2003.
- GAVA, A., e T. R. O. DE FREITAS. Microsatellite analyses of a hybrid zone between chromosomally divergent populations of *Ctenomys minutus* from southeastern Brazil (Rodentia: Ctenomyidae). **J. of Mammalogy** 85:1201–1206, 2004.
- GIANUCA, N. M. A Fauna das Dunas Costeiras do Rio Grande do Sul. In ABSALÃO, R. S., ESTEVES, A. M. (Edit.). Ecologia de Praias Arenosas do Litoral Brasileiro. **Oecologia Brasiliensis (vol III)**: 121-133, 1997.
- HEUSER, VD., SILVA, J., DIAS, JF., YONEAMA, ML. and FREITAS, TRO. Genotoxicity biomonitoring in regions exposed to vehicle emissions using the comet assay and the micronucleus test in native rodent *Ctenomys minutus*. **Environ. Mol. Mutagen., USA**, vol. 40, no. 4, p. 227-235, 2002.
- IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, 2007.
- JARRETA, M.B.M. *La puebra Del ADN em Medicina Forense*. **Masson**, 1999.
- KIBLISKY, P., BRUM-ZORRILLA, N., PEREZ, G. AND SAEZ, F.A. Variabilidade cromossômica entre diversas poblaciones uruguayas del roedor cavador del género *Ctenomys* (Rodentia-Octodontidae). **Mendeliana** 2: 85-93, 1977.
- LACEY, E. A.; BRAUDE, S.H. e WIECZOREK, J.R. Burrow sharing by colonial tuco-tucos (*Ctenomys sociabilis*). **Jornal of Mammalogy**, **78**: 556-562, 1997.
- LACEY, E. A.; PATTON, J.L. e CAMERON, G.N. Life underground: the biology of subterranean rodents. **The University of Chicago, Chicago**, 2000, 449p.
- LESSA E. P. and COOK J.A. The Molecular Phylogenetic of Tuco-tucos (genus *Ctenomys* Rodentia: Octodontidae) Suggests an Early Burst of Speciation. **Mol Phylogenet Evol** 9:88-99, 1998.

- MARINHO J. R. e FREITAS T. R. O. Intraspecific craniometric variation in chromosomal hybrid zone of *Ctenomys minutus* (Rodentia, Hystricognathi). **Zeitschrift für Säugetierkunde** 65:226–231, 2000.
- MCNAB, B.K. The metabolism of fossorial rodents: a study of convergence. **Ecology** 45: 712-733, 1966.
- MOTTA-JUNIOR, J. C. Ecologia alimentar de corujas (Aves: Strigiformes) na região central do Estado de São Paulo: biomassa e sazonalidade. **Universidade Federal de São Carlos** (Dissertação de Mestrado), 1996.
- MOTTA-JUNIOR, J. C. Relações tróficas entre cinco Strigiformes simpátricas na região central do Estado São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Ornitologia**. v. 14 n. 4., p. 359-377, 2006.
- NEVO E. Adaptive convergence and divergence of subterranean mammals. **Annual Review of Ecology and Systematics** 10: 269–308, 1979.
- NOVAK, RM. Walker's mammals of the world. 6th edition. Maryland, USA, **The Johns Hopkins University Press**. 1999, 1629p.
- PEARSON , O. P. Biology of the subterranean rodents, *Ctenomys*, in Peru. **Memorias del Museu de Historia Naural "Javier Prado"** 9: 1–56, 1959.
- PEARSON, O. P., BINSZTEIN N., BOIRY L., BUSCH C., DIPACE M., GALLOPIN G., PENCHASZADEH P. e PIANTANIDA M. Estructura social, distribución espacial e composición por edades de una población de tuco-tucos (*Ctenomys talarum*). **Investigaciones Zoológicas Chilenas** 13: 47–80, 1968.
- PIA, M.V.; LOPEZ, M.S.and NOVARO, A.J. Effects of livestock on the feeding ecology of endemic culpeo foxes (*Pseudalopex culpeus smithersi*) in central Argentina. **Rev. Chilena de Hist. Natural**. 76: 313-321, 1968.
- REIG, O.A., MASSARINI, A.I.; ORTELLS, M.O; BARROS, M.A.; TIRANTI S.I. e DYZENCHAUZ, F.J. New karyotypes and C-banding patterns of the subterranean rodents of the genus *Ctenomys* (Caviomorpha, Octodontidae) from Argentina. **Mammalia** 56: 603–623, 1992.

SICK, H. **Ornitologia Brasileira**. Rio de Janeiro, Nova Fronteira, 1997, 912 p.

SICK, H. **Ornitologia brasileira**. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 2001, 862 p.

SILVA, J., FREITAS, TRO., HEUSER, VD., MARINHO, JR., BITTENCOURT, F., CERSKI, CTS., KLASSMANN, LS. and ERDTMANN, B. Chronic exposure to coal in wild rodents (*Ctenomys torquatus*) evaluated with multiple methods and tissues. **Mutat. Res.**, vol. 470, no. 1, p. 39-51, 2000a.

SILVA, J., FREITAS, TRO., HEUSER, VD., MARINHO, JR. and ERDTMANN, B. Genotoxicity biomonitoring in coal regions using wild rodent *Ctenomys torquatus* by comet assay and micronucleus test. **Environ. Mol. Mutagen.**, vol. 35, no. 4, p. 270-278, 2000b.

SOUTHERN, E.M. Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. **J. Mol. Biol.** 98, 503– 517, 1976.

SIGRIST, T. Guia de Campo - Aves do Brasil Central. **Avis Brasilis**, 2007.

TOMAZELLI, L. J., and VILLWOCK, J. A. O Cenozóico no Rio Grande do Sul: geologia da Planície Costeira. Pp. 375–406 in **Geologia do Rio Grande do Sul** (M. Holz and L. F. De Ros, eds.). CIGO UFRGS, Porto Alegre, Brazil, 2000.

ZILIO, F. Dieta de *Falco sparverius* (Aves:Falconidae) e *Athene cunicularia* (Aves: Strigidae) em uma região de dunas no sul do Brasil. **Revista Brasileira de Ornitologia** 14: 379-392, 2006.